

***L* la vacuole des micro-organismes pathogènes : une niche de survie et de prolifération**

La plupart des maladies infectieuses qui ont marqué l'histoire de l'humanité sont contrôlées depuis la découverte et l'utilisation des antibiotiques. Dans les pays industrialisés, la tuberculose, la fièvre typhoïde, le typhus, la peste et bien d'autres maladies épidémiques n'ont plus d'incidence majeure sur la santé publique. Le dernier quart de siècle a néanmoins vu apparaître de nouvelles maladies infectieuses ou resurgir des maladies que l'on croyait disparues [1]. Le cas le plus spectaculaire est celui de la maladie du légionnaire dont la cause a été attribuée à *Legionella pneumophila*, une bactérie pathogène se développant dans les systèmes de climatisation mal entretenus et dispersée par aérosol. On enregistre également de manière sporadique des décès attribuables à une forme virulente entéro-hémorragique de *Escherichia coli*, une bactérie normalement commensale. Parmi les grands retours, on note celui du paludisme, de la tuberculose et du choléra. Le paludisme frappe 500 millions de personnes chaque année, principalement en Afrique. On considère qu'environ un tiers de la population mondiale est infecté par *Mycobacterium tuberculosis* ce qui en fait l'agent infectieux le plus destructeur avec 3 millions de morts chaque année [2].

Nombre de maladies infectieuses sont provoquées par des bactéries ou des parasites qui se développent dans des niches intracellulaires. Cet aspect du cycle infectieux a longtemps été négligé. Il est pourtant essentiel puisqu'il existe une corrélation directe entre la capacité de réplique intracellulaire de ces pathogènes et leur virulence. Ces pathogènes pénètrent dans la cellule de manière

active (*Shigella*, *Salmonella*) ou *via* des récepteurs exprimés à la surface de leur cible (*Listeria*, *Mycobacterium*). Cette revue se concentre sur les relations que les micro-organismes se répliquant dans un compartiment intracellulaire, la vacuole, établissent avec leur hôte. Après avoir été internalisés, les micro-organismes utilisent à leur profit les mécanismes de la cellule pour contrôler la biogenèse de leur vacuole et élaborer une niche de réplique ou de survie [3].

Biogenèse d'une vacuole

D'une manière générale, après avoir été internalisées par la cellule, les particules sont retrouvées dans un compartiment membranaire précoce. Le processus de maturation que celui-ci subit alors dépend de la nature inerte ou virulente de la particule qu'il contient. Lorsque la particule internalisée est inerte (débris cellulaire, corps apoptotique, microorganisme avirulent), ce compartiment précoce devient mature, aboutissant à la formation d'un phagolysosome dont le contenu est dégradé. Au cours de cette maturation, le phagosome acquiert successivement les marqueurs spécifiques des endosomes précoces, tardifs, puis des lysosomes, acquisitions qui reflètent les interactions du phagosome avec ces compartiments de la voie endocyttaire [4].

Lorsque la particule est un pathogène intracellulaire, le compartiment membranaire précoce est le siège d'une compétition entre l'hôte et le micro-organisme. Les pathogènes utilisent en effet des stratégies variées afin d'éviter la maturation, délétère pour eux, de la vacuole en phagoly-

sosome, et de favoriser l'élaboration d'une niche de survie ou de réplique (*figure 1*). En particulier, certaines bactéries mettent en place des systèmes de sécrétion (*figure 2*) leur permettant d'injecter, dans le cytoplasme de la cellule hôte, des complexes ADN-protéines ou des protéines modifiant le métabolisme cellulaire.

La lyse de la vacuole

L'une des stratégies déployées pour éviter l'environnement nocif résultant de la fusion de la vacuole précoce avec les compartiments de l'endocytose est la lyse précoce de la vacuole. C'est ce que font le protozoaire *Trypanosoma cruzi* et les bactéries *Listeria*, *Shigella* et *Rickettsia*. Ces dernières, une fois dans le cytoplasme, deviennent mobiles en provoquant la polymérisation de l'actine de façon polarisée (*m/s 2000*, n° 6-7, p. 722). Cette propulsion leur permet de se déplacer dans la cellule mais surtout de passer de cellule à cellule, colonisant ainsi les tissus sans s'exposer à nouveau au système immunitaire extracellulaire. L'activité de lyse de la vacuole est assurée par une phospholipase de *Rickettsia*, par la protéine IpaB de *Shigella* et, pour *Listeria*, par une toxine formant des pores dans la membrane (la listeriolysine O) et dans une moindre mesure par une phosphatidylinositol phospholipase C [5, 6]. On connaît encore mal les cinétiques et les événements moléculaires qui précèdent la lyse vacuolaire. La listeriolysine O est active à pH acide, indiquant que la vacuole doit certainement s'acidifier pour que la bactérie soit libérée dans le cytoplasme. Un mutant non

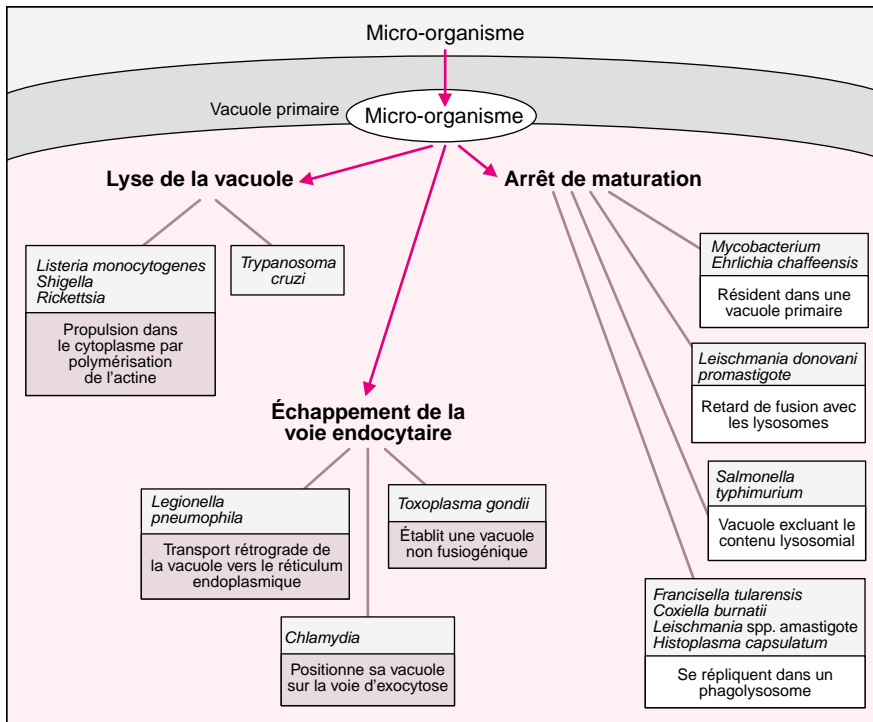


Figure 1. **Devenir de la vacuole primaire de quelques micro-organismes pathogènes intracellulaires.** Après leur internalisation, les micro-organismes pathogènes sont retrouvés dans un compartiment membranaire précoce, la vacuole primaire, dont la maturation aboutit normalement à la formation d'un phagolysosome. Plusieurs stratégies, la lyse de la vacuole, l'échappement de la voie endocyttaire, ou l'arrêt de la maturation de la vacuole, sont employées par les micro-organismes pour assurer leur survie et leur répllication.

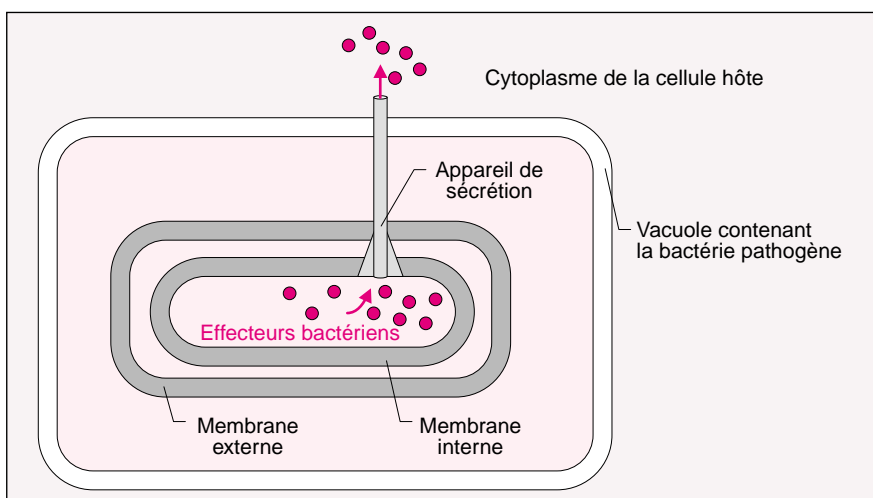


Figure 2. **Appareils de sécrétion de type III ou IV.** Ces appareils de sécrétion synthétisés par les bactéries pathogènes leur permettent d'injecter directement dans le cytoplasme de la cellule hôte des effecteurs bactériens qui sont soit des complexes ADN-protéines (type IV), soit des protéines (type III et IV).

hémolytique de *Listeria monocytogenes* reste dans une vacuole immature, ce qui indique que, dans le cas de *Listeria*, la bactérie contrôle dans une certaine mesure la maturation de sa vacuole éphémère.

Mise à l'écart de la voie endocyttaire

Le protozoaire *Toxoplasma gondii* est un parasite intracellulaire strict qui infecte aussi bien les cellules phagocytaires que non phagocytaires [7]. Sa stratégie de survie intracellulaire repose sur l'exclusion ou le recyclage rapide des protéines de l'hôte présentes à la surface de la vacuole précoce. Dépourvue des éléments de reconnaissance sur lesquels reposent les processus de fusion membranaire, la vacuole parasitaire ne peut plus fusionner et devient incompétente à tout processus de maturation. Dans le cas de *Toxoplasma*, la voie d'entrée et les événements précoces de la formation de la vacuole sont importants pour l'élaboration des vacuoles parasitaires. Ces dernières sont très souvent associées au réticulum endoplasmique et aux mitochondries (figure 3). Elles peuvent de plus acquérir des pores à leur surface permettant ainsi l'entrée de petites molécules cytoplasmiques et d'ATP qui vont permettre la répllication du parasite.

Certaines bactéries, comme *Chlamydia*, *Legionella* et *Brucella*, évitent également les interactions avec la voie d'endocytose et se répliquent dans une vacuole qui se situe sur la voie de biosynthèse et de sécrétion des protéines (réticulum endoplasmique – appareil de Golgi – membrane plasmique) de la cellule infectée. Ainsi, la vacuole de *Legionella pneumophila* s'associe séquentiellement avec les mitochondries et le réticulum endoplasmique et se positionne finalement, entourée de ribosomes, dans la région périnucléaire [8]. Cette vacuole de répllication présente des similarités morphologiques avec les autophagosomes (qui contiennent des membranes provenant du réticulum endoplasmique). Les protéines Icm/Dot, impliquées dans la virulence bactérienne, élaborent un appareil de sécrétion de type IV assurant l'exportation de facteurs de virulence dans le cytoplasme des macro-

phages infectés. Ces effecteurs bactériens sont nécessaires à la biogenèse de la vacuole. Par exemple, DotA, une protéine de la membrane interne de *Legionella* qui présente des similarités de structure avec les transporteurs ABC (*ATP binding cassette*), joue un rôle essentiel dans l'inhibition de la maturation de la vacuole en phagolysosome: en l'absence de DotA, la bactérie se situe en effet dans un compartiment enrichi en Rab7 et LAMP1, des marqueurs des membranes lysosomales (figure 3). D'autres gènes de la famille *icm/dot* (*dotH*, *dotI* et *dotO*) sont également essentiels à l'isolement de la vacuole de la voie endocytaire, mais leur mécanisme d'action reste à découvrir.

Chlamydia [9] est une bactérie intracellulaire stricte dont la vacuole est aussi complètement isolée de la voie endocytaire de la cellule hôte. Elle est en revanche capable de fusionner avec des vésicules issues de l'appareil de Golgi (figure 3) puisqu'on y retrouve des lipides comme la sphingomyéline. Les glycoprotéines de même origine semblent en revanche en être exclues. Dans ce cas, l'appareil de Golgi est certainement une source de nutriments pour la bacté-

rie. Certaines souches de *Chlamydia psittaci* s'associent quant à elles aux mitochondries dont elles pourraient tirer leur énergie. Il a été suggéré que la dynamine, une GTPase, pourrait contrôler une étape de transport vésiculaire entre l'appareil de Golgi et la vacuole contenant *Chlamydia* [10].

Peu après son internalisation, *Brucella abortus* se trouve dans une vacuole caractérisée par la présence de marqueurs des compartiments précoces de l'endocytose (EEA1 et le récepteur de la transferrine). La bactérie est ensuite localisée dans un compartiment multimembranaire de type autophagosome, puis aux temps plus tardifs de l'infection, les *Brucellae* virulentes sont présentes dans le réticulum endoplasmique dans lequel elles se répliquent [11].

On sait encore peu de choses du processus mis en jeu par *Chlamydia* et *Brucella* pour contrôler la maturation de leur vacuole. On peut néanmoins supposer que ce contrôle s'exerce, d'une part en inhibant les interactions de la vacuole avec les compartiments tardifs de l'endocytose et, d'autre part, en stimulant l'autophagie et/ou le transport rétrograde vers la voie d'exocytose. L'insertion dans

la membrane vacuolaire et la sécrétion dans le cytosol de l'hôte d'effecteurs bactériens sont certainement des mécanismes utilisés par ces bactéries. Cette hypothèse est appuyée par l'identification récente d'appareil de sécrétion de types III (*Chlamydia*) et IV (*Brucella*) chez ces bactéries.

Arrêt de maturation

Une troisième stratégie utilisée par les pathogènes pour éviter l'environnement lysosomal est d'arrêter le processus de maturation de la vacuole. Par exemple, les vacuoles qui contiennent les mycobactéries vivantes et virulentes ne fusionnent pas avec les lysosomes. Ces vacuoles possèdent et gardent les caractéristiques générales des endosomes précoces sans acquérir celles des endosomes tardifs et des lysosomes. La vacuole mycobactérienne est accessible à de la transferrine internalisée, à de la toxine cholérique ainsi qu'à des marqueurs de la phase fluide et contient une forme partiellement clivée de la cathepsine D, une enzyme lysosomiale. Ces résultats indiquent que les vacuoles mycobactériennes gardent leur capacité de fusion avec des vésicules de l'endocytose précoce et celles provenant du réseau trans-golgien. Étant données les difficultés rencontrées dans les manipulations génétiques des mycobactéries, un nombre très réduit de gènes impliqués dans l'arrêt de la maturation de la vacuole contenant *Mycobacterium* ont été identifiés. Une approche protéomique a permis la caractérisation d'une protéine cellulaire normalement relarguée du phagosome avant sa fusion avec un lysosome, mais qui, dans le cas de *Mycobacterium tuberculosis*, est retenue autour de la vacuole par interaction avec le cholestérol vacuolaire [12]. Cette protéine, appelée TACO (*tryptophane aspartate-containing coat protein*), présente des homologues avec la coronine connue pour interagir avec la F-actine, et serait responsable, en restant à la surface cytoplasmique de la vacuole, de l'arrêt de sa maturation. Lorsque la protéine TACO n'est pas exprimée, comme dans le cas des macrophages résidents du foie, les cellules de Kupffer, la bactérie est rapidement transférée

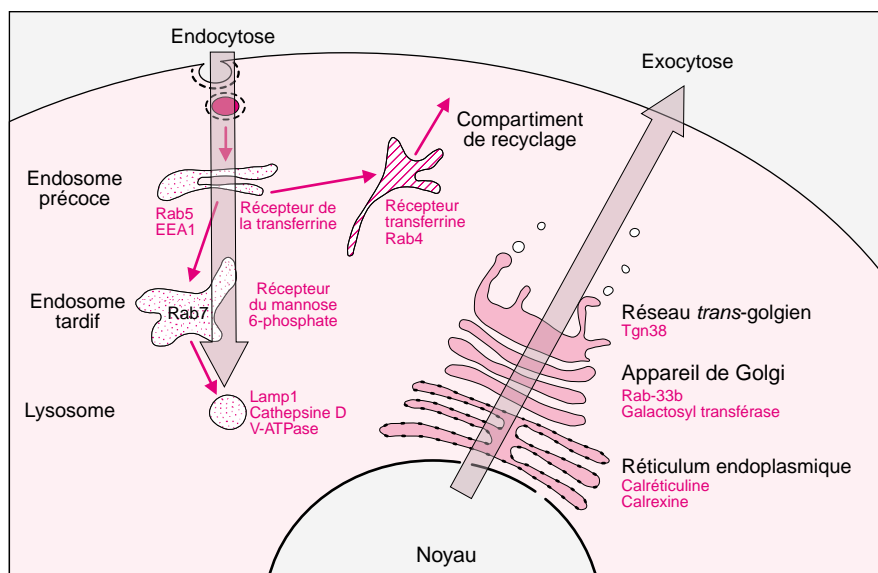


Figure 3. **Organites intracellulaires capables d'établir des interactions avec les vacuoles contenant des micro-organismes.** La vacuole primaire peut interagir avec les endosomes précoces, les endosomes tardifs et les lysosomes de la voie d'endocytose, et avec le réticulum endoplasmique, l'appareil de Golgi et le réseau trans-golgien sur la voie de la biosynthèse.

dans les lysosomes puis éliminée [13].

La forme amastigote de *Leishmania donovani* réside dans une vacuole qui fusionne avec les lysosomes, tandis que sa forme promastigote virulente est retrouvée dans des vacuoles qui possèdent des propriétés faiblement fusogéniques avec les organelles de l'endocytose tardive. Cette propriété a été attribuée à l'exclusion de Rab7 et à la présence de lipophosphoglycan [14].

Salmonella typhimurium est une bactérie intracellulaire qui, dans les cellules épithéliales et les macrophages, réside dans un compartiment membranaire dans lequel elle se réplique après une période de latence de plusieurs heures. La biogenèse de la vacuole est caractérisée par une acquisition transitoire de EEA1 et du récepteur de la transferrine, suivie par un enrichissement progressif en ATPase vacuolaire et en glycoprotéines lysosomiales [15]. Pendant l'infection, des vésicules enrichies en Rab7 et en protéine LAMP, mais sans cathepsine D, s'accumulent de façon transitoire au voisinage des vacuoles bactériennes avec lesquelles elles interagissent. Ces vésicules pourraient correspondre à des compartiments intermédiaires formés dans la voie d'endocytose. Ce mécanisme pourrait ainsi expliquer pourquoi la vacuole parasitaire est capable d'acquérir certaines glycoprotéines lysosomiales et exclure les hydrolases acides qui sont normalement concentrées dans les lysosomes [16]. Lorsque la bactérie commence à se répliquer, elle induit la formation de structures membranaires tubulaires connectées aux vacuoles. La fonction de ces tubules reste à déterminer. Au cours de l'infection par *Salmonella*, alors qu'un premier appareil de sécrétion de type III déclenche l'internalisation de la bactérie, un deuxième, codé par *Spi/Ssa* à l'intérieur de l'îlot de pathogénicité SPI-2, est nécessaire à sa survie et à sa réplique dans les macrophages [17]. SpiC, une protéine codée par SPI-2, est exportée dans le cytosol de la cellule hôte grâce au système de sécrétion Spi/Ssa et inhibe la fusion entre la vacuole et les lysosomes. SifA, une protéine codée à l'extérieur de SPI-2,

également exportée par le même système de sécrétion, est nécessaire au maintien des bactéries dans une vacuole lors de la phase de réplique. Les cibles de ces deux effecteurs ne sont pas encore connues.

L'arrêt de maturation des vacuoles parasitaires a été attribué à la persistance ou à l'exclusion de protéines de la cellule hôte connues pour régler l'activité de trafic membranaire dans les voies de l'endocytose et de la phagocytose. Toutefois, notre impuissance à élucider les mécanismes de subversion administrés par les bactéries reflète notre manque de connaissance des mécanismes moléculaires fondamentaux impliqués dans ces voies de transport. La recherche des effecteurs bactériens et de leurs cibles est une priorité.

Modulation par la cellule hôte de la maturation de la vacuole parasitaire

La maturation d'un compartiment vésiculaire en vacuole ou bien en phagosome et phagolysosome peut être considérée comme le résultat d'un équilibre entre les défenses de la cellule hôte et les armes déployées par le pathogène. Les phagocytes professionnels comme les macrophages sont les mieux armés pour gagner cette lutte. De nombreuses études ont mis en exergue le rôle des cytokines dans la régulation des activités bactéricides des phagocytes professionnels. Cependant, peu de travaux se sont concentrés sur le rôle des cytokines ou chimiokines sur la biogenèse des vacuoles ou de leur transformation en phagosomes. L'activation des macrophages par de l'interféron gamma (IFN γ) permet de moduler l'étape de maturation des vacuoles qui contiennent *Mycobacterium* [18]. Les bactéries se retrouvent alors dans une vacuole qui est caractérisée par un pH plus bas que celui des vacuoles de cellules non traitées par l'IFN γ , par une accumulation d'ATPase vacuolaire et par la perte d'accessibilité de la transferrine. Certaines formes de susceptibilité aux infections par les mycobactéries ont été associées à un déficit fonctionnel du récepteur de l'IFN γ [19]. Par ailleurs, l'IFN γ accélère la

maturation des vacuoles qui contiennent *Listeria monocytogenes* [20]. Cet effet a été corrélé avec une augmentation de l'expression de Rab5 sur les vacuoles [21]. Plus récemment, des GTPases du type IGTP, dont l'expression est induite par l'IFN γ , ont été impliquées dans la résistance de l'hôte vis-à-vis de *Toxoplasma gondii* [22]. Dans des macrophages de souris activés, le facteur de stimulation des granulocytes (G-CSF), dont l'expression est contrôlée spécifiquement par le facteur de transcription NF-IL6, est important dans l'activation des mécanismes de fusion entre les vacuoles qui contiennent *Brucella abortus* et les endosomes [23]. Il apparaît donc que les cytokines jouent un rôle important dans la formation des vacuoles en modulant l'expression de divers facteurs impliqués dans les processus de fusion membranaire. Les souris génétiquement modifiées dans leur expression de cytokines seront certainement d'excellents modèles d'étude pour mettre à nu la complexité des effets pro- ou anti-inflammatoires impliqués dans les étapes de maturation des vacuoles parasitaires.

Nous avons observé que la forme virulente de *Salmonella typhimurium* pénètre dans les mélanocytes humains et s'y multiplie sans se segmenter. Il se forme alors au cours des répliques une chaîne bactérienne qui est ensuite recyclée par exocytose à l'extérieur de la cellule, sous une forme non virulente rapidement dégradée par les macrophages. Nous sommes en train de caractériser les mécanismes impliqués dans l'arrêt de segmentation des salmonelles dans les vacuoles et dans leur perte de virulence. Parmi les quelques produits de gènes connus pour être directement impliqués dans des phénomènes de résistance aux infections, il y a Nramp-1, dont le rôle semble lié à son action sur la vacuole [24]. Nramp-1 est une protéine lysosomiale qui confère une résistance à certains pathogènes intracellulaires comme *Mycobacterium tuberculosis*, *Leishmania donovani* et *Salmonella typhimurium*. Ce transporteur d'ions métalliques est recruté sur la membrane des vacuoles contenant ces micro-organismes dans les leucocytes

polymorphonucléaires et les macrophages. Nramp-1 pourrait directement ou indirectement influencer les propriétés de fusion des vacuoles en enlevant des ions essentiels pour la survie des pathogènes dans les vacuoles, rendant l'environnement intraphagosomique inhospitalier aux pathogènes. Une fois tués, les pathogènes n'auraient plus la possibilité de maintenir leur effet inhibiteur sur les propriétés de fusion avec les lysosomes. Un homologue de Nramp a aussi été retrouvé chez *Mycobacterium*. Dans ce cas, pathogène et hôte entreraient en compétition pour un ion particulier, ce qui met en évidence l'importance de l'équilibre ionique à l'intérieur des vacuoles pour la survie des pathogènes.

Conclusions

Nos connaissances sur la maturation de la vacuole parasitaire augmentent rapidement mais sont encore préliminaires. Les mécanismes mis en jeu pour initier puis contrôler la biogénèse de leur niche intracellulaire restent à identifier. Les approches biochimiques et génétiques en cours de développement devraient permettre d'identifier les effecteurs bactériens et leurs cibles dans la cellule hôte. Ces pathogènes intracellulaires étant localisés dans des compartiments peu accessibles aux antibiotiques conventionnels, ces recherches sont essentielles pour la mise en place de thérapies préventives ou curatives innovantes ■

RÉFÉRENCES

- Scheld MW, Craig WA, Hughes JM. *Emerging infections*. Washington DC: ASM Press, 1999.
- Shinnick TM, King CH, Quinn FD. Molecular biology, virulence, and pathogenicity of mycobacteria. *Am J Med Sci* 1995; 309: 92-8.
- Meresse S, Steele-Mortimer O, Moreno E, Desjardins M, Finlay B, Gorvel JP. Controlling the maturation of pathogen-containing vacuoles: a matter of life and death. *Nat Cell Biol* 1999; 1: 183-8.
- Desjardins M, Huber LA, Parton RG, Griffiths G. Biogenesis of phagolysosomes proceeds through a sequential series of interactions with the endocytic apparatus. *J Cell Biol* 1994; 124: 677-88.
- Nhieu GT, Sansonetti PJ. Mechanism of Shigella entry into epithelial cells. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2: 51-5.
- Cossart P, Lecuit M. Interactions of *Listeria monocytogenes* with mammalian cells during entry and actin-based movement: bacterial factors, cellular ligands and signaling. *EMBO J* 1998; 17: 3797-806.
- Sinai AP, Joiner KA. Safe haven: the cell biology of nonfusogenic pathogen vacuoles. *Annu Rev Microbiol* 1997; 51: 415-62.
- Vogel JP, Isberg RR. Cell biology of *Legionella pneumophila*. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2: 30-4.
- Byrne GI, Skarlotos SI, Grunfeld C, et al. Collaborative multidisciplinary workshop report: interface of lipid metabolism, atherosclerosis, and chlamydia infection. *J Infect Dis* 2000; 181: S490-1.
- Boleti H, Benmerah A, Ojcius DM, Cerf-Bensussan N, Dautry-Varsat A. Chlamydia infection of epithelial cells expressing dynamin and eps15 mutants: clathrin-independent entry into cells and dynamin-dependent productive growth. *J Cell Sci* 1999; 112: 1487-96.
- Pizarro-Cerda J, Moreno E, Gorvel JP. *Brucella abortus* invasion and survival within professional and nonprofessional phagocytes. In: Gordon S, ed. Stamford: JAI Press Inc, 1999: 201-32.
- Gatfield J, Pieters J. Essential role for cholesterol in entry of mycobacteria into macrophages. *Science* 2000; 288: 1647-50.
- Ferrari G, Langen H, Naito M, Pieters J. A coat protein on phagosomes involved in the intracellular survival of mycobacteria. *Cell* 1999; 97: 435-47.
- Scianimanico S, Desrosiers M, Dermine JF, et al. Impaired recruitment of the small GTPase rab7 correlates with the inhibition of phagosome maturation by *Leishmania donovani* promastigotes. *Cell Microbiol* 1999; 1: 19-32.
- Steele-Mortimer O, Méresse S, Toh B-H, et al. Biogenesis of *Salmonella typhimurium*-containing vacuoles in epithelial cells involves interactions with the early endocytic pathway. *Cell Microbiol* 1999; 3: 33-50.
- Meresse S, Steele-Mortimer O, Finlay BB, Gorvel JP. The rab7 GTPase controls the maturation of *Salmonella typhimurium*-containing vacuole in HeLa cells. *Embo J* 1999; 18: 4394-403.
- Marcus SL, Brumell JH, Pfeifer CG, Finlay BB. *Salmonella* pathogenicity islands: big virulence in small packages. *Microbes Infect* 2000; 2: 145-56.
- Schaible UE, Sturgill-Koszycki S, Schlesinger PH, Russell DG. Cytokine activation leads to acidification and increases maturation of *Mycobacterium avium*-containing phagosomes in murine macrophages. *J Immunol* 1998; 160: 1290-6.
- Jouanguy E, Lamhamedi-Cherradi S, Lammas D, et al. A human IFNGR1 small deletion hotspot associated with dominant susceptibility to mycobacterial infection. *Nat Genet* 1999; 21: 370-8.
- Portnoy DA, Schreiber RD, Connelly P, Tilney LG. Gamma interferon limits access of *Listeria monocytogenes* to the macrophage cytoplasm. *J Exp Med* 1989; 170: 2141-6.
- Alvarez-Dominguez C, Stahl PD. Interferon-gamma selectively induces Rab5a synthesis and processing in mononuclear cells. *J Biol Chem* 1998; 273: 33901-4.
- Taylor GA, Collazo CM, Yap GS, et al. Pathogen-specific loss of host resistance in mice lacking the IFN-gamma-inducible gene IGTP. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 751-5.
- Pizarro-Cerda J, Desjardins M, Moreno E, Akira S, Gorvel JP. Modulation of endocytosis in nuclear factor IL-6^{-/-} macrophages is responsible for a high susceptibility to intracellular bacterial infection. *J Immunol* 1999; 162: 3519-26.
- Blackwell JM, Searle S, Goswami T, Miller EN. Understanding the multiple functions of Nramp1. *Microbes Infect* 2000; 2: 317-21.

Stéphane Méresse
María José Martínez-Lorenzo
Jean-Pierre Gorvel

Centre d'immunologie de Marseille-Luminy, Inserm-Cnrs-Université Méditerranée, Campus de Luminy, Case 906, 13288 Marseille Cedex 09, France.

TIRÉS À PART

J.P. Gorvel.